

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number : **63-022583**

(43) Date of publication of application : **30.01.1988**

(51) Int.Cl. C07D493/10
A01N 43/90
//(C07D493/10
C07D303:00
C07D309:00)

(21) Application number : **61-164575** (71) Applicant : IDEMITSU KOSAN CO LTD

(22) Date of filing : **15.07.1986** (72) Inventor : **SUZUKI GENSHI
TSUZUKI MORIYUKI**

(54) SI-4228 BASED SUBSTANCE AND GERMICIDE CONTAINING SAID SUBSTANCE AS ACTIVE INGREDIENT

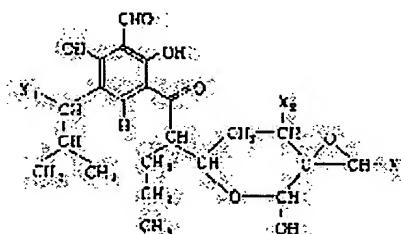
(57) Abstract:

NEW MATERIAL: A compound expressed by the formula
(X1 is H or methoxy; X2 is H or OH; X3 is methyl or isopropyl).

EXAMPLE: 2-Methyl-4-hydroxy-6-[1-[2, 4-dihydroxy-3-formyl-5-(2-methylpropyl)benzoyl]-butyl]1,5-dioxaspiro[2,5]octane.

USE: A germicide.

PREPARATION: For example, Streptomyces sp. SI-4228 (FERM P-6198) which is a microorganism belonging to the genus Streptomyces is inoculated into a culture medium and cultivated and the resultant culture is then treated in a centrifuge and separated into microbial cells and filtrate, which is extracted with ethyl acetate and concentrated to dryness under reduced pressure, washed with n-hexane and extracted with benzene. The benzene solution is then evaporated to dryness under reduced pressure and the residual substance is dissolved in chloroform and purified by gel chromatography, etc., to afford the aimed SI-4228 based substance.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

⑪ 公開特許公報 (A)

昭63-22583

⑤Int.Cl.
 C 07 D 493/10
 A 01 N 43/90
 //C 07 D 493/10
 303/00
 309/00

識別記号
 101

序内整理番号
 C-8615-4C
 7215-4H

③公開 昭和63年(1988)1月30日

審査請求 未請求 発明の数 2 (全13頁)

④発明の名称 SI-4228系物質およびそれを有効成分とする殺菌剤

②特願 昭61-164575

②出願 昭61(1986)7月15日

⑦発明者 鈴木 源士 千葉県君津郡袖ヶ浦町上泉1660番地

⑦発明者 都築 司幸 東京都世田谷区船橋3丁目21番8号

⑦出願人 出光興産株式会社 東京都千代田区丸の内3丁目1番1号

⑦代理 人 弁理士 久保田 藤郎

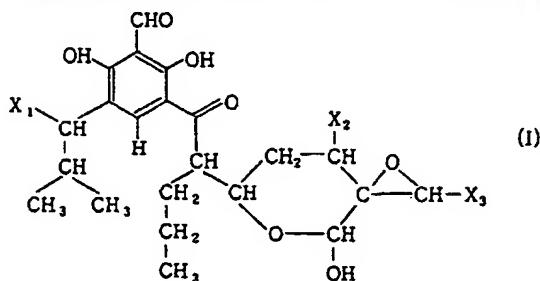
明細書

1. 発明の名称

SI-4228系物質およびそれを有効成分とする殺菌剤

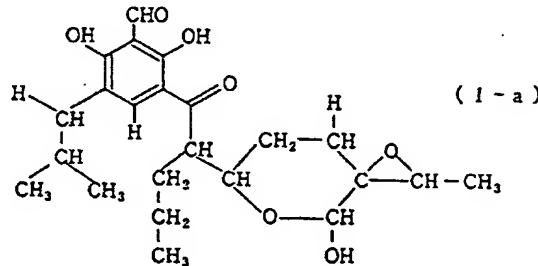
2. 特許請求の範囲

(1) 一般式(I)で表わされるSI-4228系物質。

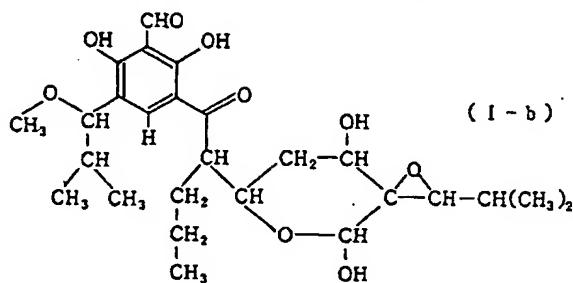


(ここで、X₁は水素原子またはメトキシ基を、X₂は水素原子または水酸基を、X₃はメチル基またはイソプロピル基を示す。)

(2) SI-4228系物質が、下記の式(I-a)で表わされるSI-4228C物質である特許請求の範囲第1項記載のSI-4228系物質。

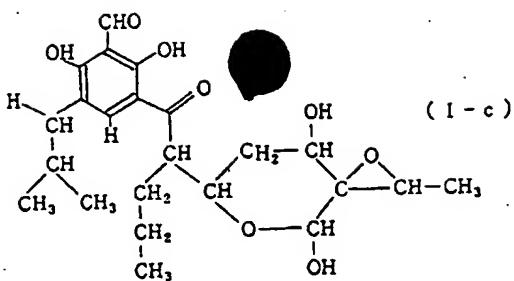


(3) SI-4228系物質が、下記の式(I-b)で表わされるSI-4228D物質である特許請求の範囲第1項記載のSI-4228系物質。

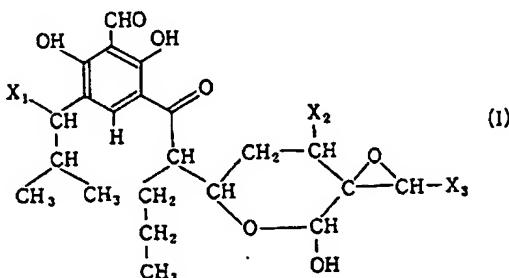


(4) SI-4228系物質が、下記の式(I-c)で表わされるSI-4228E物質である特許請求の範囲第1項記載のSI-4228系物質。

表わされる SI - 4228 C 物質である特許請求の範囲第5項記載の殺菌剤。

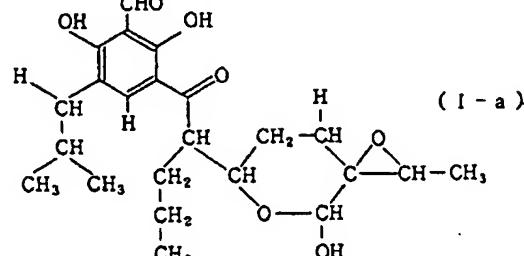


(5) 一般式(I)で表わされる SI - 4228 系物質を有効成分として含有する殺菌剤。

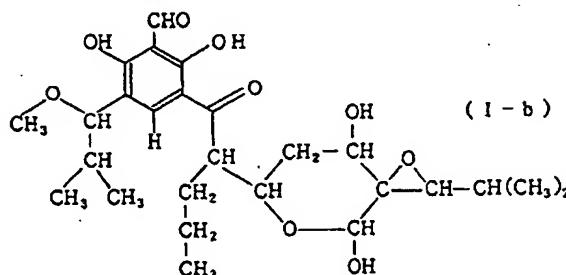


(ここで、X₁は水素原子またはメトキシ基を、X₂は水素原子または水酸基を、X₃はメチル基またはイソプロピル基を示す。)

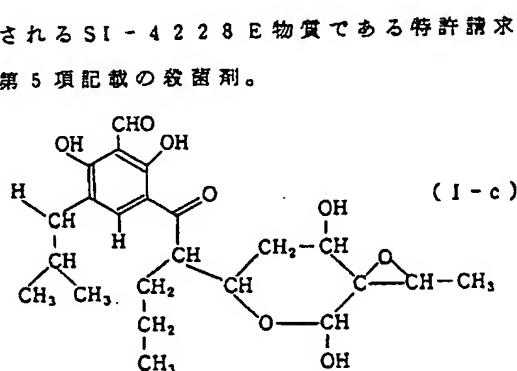
(6) SI - 4228 系物質が、下記の式(I-a)で表わされる SI - 4228 D 物質である特許請求の範囲第5項記載の殺菌剤。



(7) SI - 4228 系物質が、下記の式(I-b)で表わされる SI - 4228 D 物質である特許請求の範囲第5項記載の殺菌剤。



(8) SI - 4228 系物質が、下記の式(I-c)で表わされる SI - 4228 E 物質である特許請求の範囲第5項記載の殺菌剤。



3. 発明の詳細な説明

〔産業上の利用分野〕

本発明は SI - 4228 系物質およびそれを有効成分とする殺菌剤に関する。

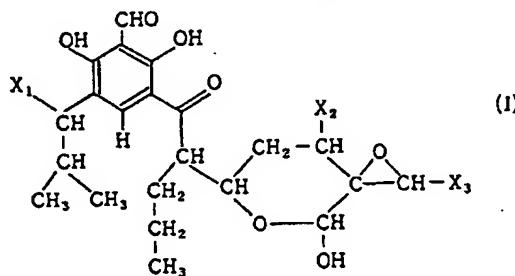
〔従来の技術〕

本発明者らは既にストレプトミセス属に属する微生物、ストレプトミセス・エスピーエス (FERM P - 6198) が新規抗生物質を生産することおよび該物質が農業用殺菌剤として有用であることを見出している (特開昭58-116686号)。

〔問題点を解決するための手段〕

本発明者らは、さらに研究を進めた結果、上記微生物は上記物質の他に 3 種類の物質を生産することならびにこれら物質が殺菌剤として有用であることを見出し、本発明を完成したのである。

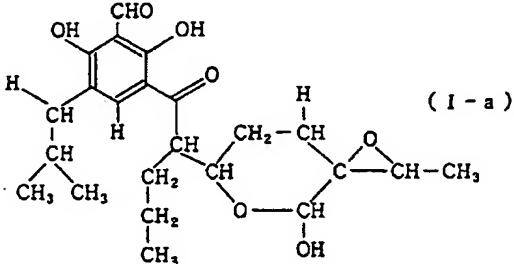
すなわち本発明は、一般式(I)で表わされる SI - 4228 系物質ならびに該物質を有効成分として含有する殺菌剤に関するものである。



(ここで、X₁は水素原子またはメトキシ基を、X₂は水素原子または水酸基を、X₃はメチル基またはイソプロピル基を示す。)

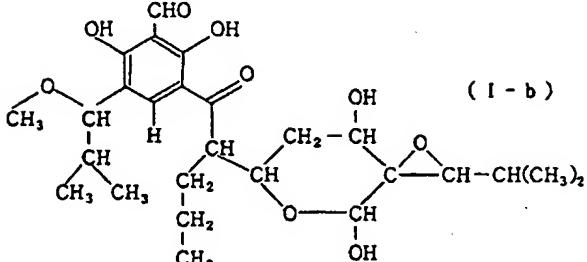
上記式(I)において、X₁とX₂が水素原子であり、X₃がメチル基である物質、すなわち下記の式

(I-a)で表わされる物質をSI-4228C物質と称し、本物質の化合物名は2-メチル-4-ヒドロキシ-6-[1-[2,4-ジヒドロキシ-3-ホルミル-5-(2-メチルプロピル)ベンゾイル]-ブチル]1,5-ジオキサスピロ[2,5]オクタンである。

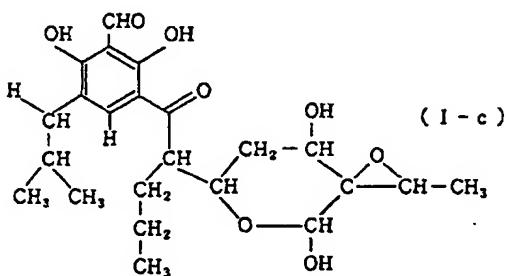


また、前記式(I)において、 X_1 がメトキシ基、 X_2 が水酸基であり、 X_3 がイソプロピル基である物質、すなわち下記の式(I-b)で表わされる物質をSI-4228E物質と称し、本物質の化合物名は2-ブチル-4,8-ジヒドロキシ-6-[1-[2,4-ジヒドロキシ-3-ホルミル-5-(1-メトキシ-2-メチルプロピル)ベンゾイル]-ブチル]1,5-ジオキサスピロ[2,5]オクタンである。

ル]-ブチル]1,5-ジオキサスピロ[2,5]オクタンである。



前記式(I)において、 X_1 が水素原子、 X_2 が水酸基であり、 X_3 がメチル基である物質、すなわち下記の式(I-c)で表わされる物質をSI-4228D物質と称し、本物質の化合物名は2-ブチル-4,8-ジヒドロキシ-6-[1-[2,4-ジヒドロキシ-3-ホルミル-5-(2-メチルプロピル)ベンゾイル]-ブチル]1,5-ジオキサスピロ[2,5]オクタンである。



これらSI-4228系物質は、ストレプトミセス属に属する微生物、たとえばストレプトミセス・エスピ- SI-4228株 (FERM P-6198) を培養し、培養物から該物質を採取することによつて得ることができる。

培養は微生物が利用できる栄養物を含有する培地を用いて行ない、たとえば炭素源としてグルコース、シュークロース、デンプン、水アメ、デキストリン、グリセリンなどを使用できる。また、窒素源としては硝酸アンモニウム、硫酸アンモニウム、肉エキス、コーン・ステイプ・リカー、ペプトン、乾燥酵母、コーン・グルテン、大豆粉その他の有機または無機の窒素化合物などを使用

することができる。その他必要に応じて食塩、リン酸塩類、カルシウム、亜鉛、マグネシウム、鉄などの無機塩類を添加したり、微生物の生育を助け、SI-4228系物質の生産に有用な物質を適宜添加することができる。

培養は好気的条件下に行なわれ、通常は25~34℃、好ましくは28~32℃の温度で3~10日間、好ましくは4~6日間行なうことによつてSI-4228系物質の蓄積量が最高となる。SI-4228系物質は培養濾液内に蓄積される他、菌体内にも蓄積される。

本発明のSI-4228系物質は後記する理化学的性質を有するので、該性質を考慮して抽出、精製を行なう。すなわち、培養物に①酢酸エチル等の有機溶剤を加えて抽出を行ない、得られた抽出液を適当な手段によつて濃縮後、ベンゼンを用いて転溶する。次いで、ゲル干過を行ない、シリカゲルカラムで分離、精製する②培養物の滤液をイオン交換樹脂または活性炭吸着に付し、次いで溶出を行なつた後、前述の如くシリカゲルカラムで

分離精製し、さらにゲル通過を行なつてから結晶化せしめる等の方法により精製されたSI-4228系物質を得ることができる。

このようにして得られたSI-4228系物質は、前記の如くSI-4228C物質、同D物質および同E物質の3種であり、それぞれ前記した式で表わされるものである。これらSI-4228系物質は以下のようない物理・化学的性質を有している。

性 質	SI-4228物質		
	C	D	E
物色の色・形状	白色粉末	白色粉末	白色粉末
元素分析値(%) C:	66.0	62.9	63.5
H:	7.5	7.6	7.3
N:	0	0	0
分子量(マススペクトル)	420	494	436
分子式	$C_{23}H_{32}O_7$	$C_{28}H_{38}O_9$	$C_{23}H_{32}O_8$
赤外線吸収スペクトル	第1図	第2図	第3図
紫外線吸収スペクトル	第4図	第5図	第6図
1H -NMRスペクトル	第7図	第8図	第9図
^{13}C -NMRスペクトル	第10図	第11図	第12図

第 1 表

供 試 菌	最小発育阻止濃度(mcg/ml)		
	SI-4228物質		
	C	D	E
エシエリヒア・コリ (<i>Escherichia coli</i>)	>100	>100	>100
バチルス・ズプテイリス (<i>Bacillus subtilis</i>)	>100	>100	>100
エルウニア・アロイデア (<i>Erwinia aroidea</i>)	>100	>100	>100
キサントモナス・キヤンペストリス・ビイブオリゼー (<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>oryzae</i>)	>100	>100	>100
シュードモナス・ラクリマンス (<i>Pseudomonas lachrymans</i>)	>100	>100	>100
コリネバクテリウム・ミチガニンス (<i>Corynebacterium michiganense</i>)	>100	>100	>100
アグロバクテリウム・テュメファシエンス (<i>Agrobacterium tumefaciens</i>)	>100	>100	>100
マイコバクテリウム・フレイ (<i>Mycobacterium phlei</i>)	>100	>100	>100
サツカロミセス・セレビシエ (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	100	100	100
キヤンディダ・アルビカンス (<i>Candida albicans</i>)	50	50	>100
アスペルギルス・ニガー (<i>Aspergillus niger</i>)	>100	>100	>100

性 質	SI-4228物質		
	C	D	E
中性、酸性、塩基性の区別	中 性	中 性	中 性
溶解性: 水	不 溶	不 溶	不 溶
n-ヘキサン	"	"	"
メタノール	可 溶	可 溶	可 溶
アセトン	"	"	"
酢酸エチル	"	"	"
ベンゼン	"	"	"
クロロホルム	"	"	"
四塩化炭素	"	"	"
呈色反応: $FeCl_3$, 2,4-ジニトロ フェニルヒドラゾン	陽 性	陽 性	陽 性
ニンヒドリン	陰 性	陰 性	陰 性

これらSI-4228系物質についてポテト・グルコース寒天培地を用い倍数希釈法により求めた各種微生物に対する最小発育阻止濃度は次のとおりである。

第 1 表(続き)

供 試 菌	最小発育阻止濃度(mcg/ml)		
	SI-4228物質		
	C	D	E
ピリキュラリア・オリゼー (<i>Pyricularia oryzae</i>)	>100	50	>100
アルタナリア・マリ (<i>Alternaria mali</i>)	>100	>100	>100
ボトリティス・シネレア (<i>Botrytis cinerea</i>)	100	50	100
ペリキュラリア・ササキイ (<i>Pellicularia sasakii</i>)	6.25	12.5	12.5
フザリウム・オキスピラム (<i>Fusarium oxysporum</i>)	>100	>100	>100
グロメレラ・シンギュラータ (<i>Glomerella cingulata</i>)	>100	>100	>100
コレトリカム・ラゲナリウム (<i>Colletotrichum lagenarium</i>)	100	50	>100
ピシウム・アフアニデルマタム (<i>Pythium aphanidermatum</i>)	12.5	6.25	1.56

〔発明の効果〕

本発明のSI-4228系物質は農園芸用殺菌剤、工業用殺菌剤などとして有用であるほか、医薬としての利用も期待される。農園芸用殺菌剤としては、特に灰色カビ病、炭疽病、軟枯病、イモチ病

などに対して有効であり、しかも既存の殺菌剤よりも低薬量で十分な防菌効果を示す。なお、これら物質または製薬上許可される酸付加塩は適当な賦形剤などを配合して水和剤、乳剤、粉剤、粒剤等の剤型に製剤して用いる。

〔実施例〕

次に、本発明を実施例などにより詳しく説明する。

製造例1

pH 6.8 に調整したグルコース 3 %, ポリペプトン 0.2 %, マルトエキストラクト 0.8 %, NaCl 0.08 %, KH₂PO₄ 0.12 % を含む培地 30 ml を容量 60 ml のジャーフアーメンターに注入し、滅菌後、マイヤーフラスコで培養した種培養液（ストレプトミセス・エスピ-4228株、FERM P-6198）20.0 ml を接種した。接種後、32°C で毎分 30 ml の無菌空気を通気し、600 rpm で 9.6 時間攪拌培養した。

培養物を連続遠心機（5000G）にかけ菌体と汎液に分離し、汎液中に 20 ml の酢酸エチルを

次に、セフアデックス LH-20 をメタノールに分散せしめた後、径 1.8 mm のガラスカラムに高さ 100 mm 充填した。次いで、前記濃縮物を少量のメタノールに溶解し、カラムの上端にのせて吸着させた。溶出液をフラクションコレクターで 5 ml ずつ分取し、フラクション 1.5 ~ 4.2 を集めて濃縮乾固した。次に、シリカゲル（メルク社製）にベンゼンを加え、径 1.2 mm のガラスカラムに高さ 10 mm 充填し、濃縮物を少量のベンゼンに溶解し、カラムの上端にのせて吸着させた。

しかる後、ベンゼン：酢酸エチル（10：1）混合物で展開した。溶出液をフラクションコレクターで 5 ml ずつ分取し、フラクション 4.6 ~ 11.8 を集めた。この画分を減圧濃縮して油状の SI-4228D 物質 6.6 g を得た。この物質は前記理化学的性質を有していた。

さらに、SI-4228D 物質溶出後、フラクション 1.3.2 ~ 1.6.8 を集め、この画分を減圧濃縮して油状の SI-4228C 物質 3.2 g を得た。この物質は前記理化学的性質を有していた。

加えて 1 時間攪拌し、酢酸エチル層を集めた。一方、遠心分離により集めた菌体に 10 ml のアセトンを加え、1000 rpm で 10 時間攪拌し、その後プロナーロートを用いて戻過し、アセトン層を集めた。

次いで、酢酸エチル層とアセトン層を混合し、40°C で減圧濃縮乾固した。濃縮物に n-ヘキサン 2 ml を加え 1 時間攪拌後、静置し、生じた n-ヘキサン層を除いて沈殿物を集めた。次に、この沈殿物に 1 ml のベンゼンを加えたのち戻過して沈殿物を除いた。その後、ベンゼン溶液を 40°C で減圧濃縮乾固して 4132 mg の濃縮物を得た。

セフアデックス LH-20 をクロロホルムに分散せしめた後、径 7.0 mm のガラスカラムに高さ 60 mm 充填した。次いで、前記濃縮物を 1.4 ml のクロロホルムに溶解し、カラムの上端にのせて吸着させた。溶出液をフラクションコレクターで 20 ml ずつ分取し、フラクション 3.2 ~ 6.4 を集めて濃縮乾固した。

製造例2

製造例1において、培養物からの酢酸エチルおよびアセトン抽出物を n-ヘキサンおよびベンゼンで洗浄し、濃縮乾固して得た 4132 mg の濃縮物を、セフアデックス LH-20 を用いてクロロホルムで展開したフラクション 1.2.1 ~ 1.6.8 を集めて濃縮乾固した。

次いで、シリカゲル（メルク社製）にベンゼンを加え、径 1.2 mm のガラスカラムに高さ 10 mm 充填し、濃縮物の少量のベンゼンに溶解し、カラムの上端にのせて吸着させしめた。しかる後、ベンゼン：酢酸エチル（12：1）混合物で展開した。溶出液をフラクションコレクターで 5 ml ずつ分取し、フラクション 1.3.2 ~ 1.6.8 を集めた。この画分を減圧濃縮し、油状の SI-4228E 物質 6.8 g を得た。この物質は前記理化学的性質を有していた。

実施例1

（乳剤）

SI-4228C または D または E 物質 4.0 g,

キシレン 4.5 部、ソルポール 3005X (東邦化学工業社製) 1.5 部を溶かして希釈する。本剤を水で 2,000 ~ 4,000 倍に希釈して散布する。

実施例 2

(水和剤)

SI-4228C または D または E 物質 1.0 部、デタージェント 6.0 (ライオン社製) 0.9 部、ソルポール 800A (東邦化学工業社製) 1.8 部、ジークリライト (ジークリライト工業社製) 87.3 部を混合粉碎する。本剤を水で 500 ~ 1,000 倍に希釈して散布する。

試験例 1

SI-4228C または D または E 物質のインゲン灰色カビ病に対する予防効果試験

播種後 30 日目のインゲン (品種: キーストン, 鉢植) 5 株に所定濃度の供試化合物を含む薬剤を散布し、散布 24 時間後に *Botrytis cinerea* の胞子懸濁液 (1×10^6 個/ml) を直径 8 mm のペーパーディスクにつけたものをインゲン 1 株につき 2 枚の葉の表面にのせた。比較のために薬剤を散

布しない株にも同一の方法で菌を接種した。

その後、温度 25 °C, 湿度 100% の恒温、恒湿槽内にインゲンを保持し、5 日後に葉面にできた腐死長径を葉の裏面より測定し、下記の方法により罹病度を算出した。

第 2 表に試験結果を示した。

$$\text{罹病度} = \frac{n_1 + n_2 + \dots + n_9 + n_{10}}{N_1 + N_2 + \dots + N_9 + N_{10}} \times 100$$

n : 試験葉の病斑の長径 (mm)

N : 無散布葉

薬剤	濃度 (ppm)	罹病度
SI-4228C 物質 (乳剤)	200	0
"	100	11.2
"	50	23.3
SI-4228D 物質 (乳剤)	200	2.6
"	100	14.7
"	50	25.2
SI-4228E 物質 (乳剤)	200	3.2
"	100	26.5
"	50	36.8
ポリオキシン	200	27.6
ロプラー	500	3.4

試験例 2, 3

SI-4228C または D または E 物質のレタス灰色カビ病、ピーマン灰色カビ病に対する予防効果試験

播種後 60 日日のレタス (品種: グレートレークス 366, 鉢植) および播種後 40 日日のピーマン (品種: ニューエース, 鉢植) 各 5 株に所定濃度の薬剤を散布し、予め寒天培地上に生育せしめた *Botritis cinerea* の菌糸を径 4 mm のコルクボーラーで打ち抜いたものを 1 株につき 2 枚の葉にのせた。その後、試験例 1 と同様の方法で試験を行なつた。結果を第 3 表および第 4 表に示した。

第 3 表 レタス灰色カビ病に対する試験

薬剤	濃度 (ppm)	罹病度
SI-4228C 物質 (水和剤)	200	0
"	100	12.6
"	50	20.0
SI-4228D 物質 (水和剤)	200	1.1
"	100	14.0
"	50	27.4
SI-4228E 物質 (水和剤)	200	1.6
"	100	13.1
"	50	22.0
ロプラー	500	12.7

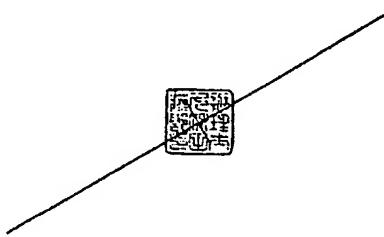
第 4 表 ピーマン灰色カビ病に対する試験

薬剤	濃度 (ppm)	罹病度
SI-4228C 物質 (水和剤)	200	2.2
"	100	18.3
"	50	31.9
SI-4228D 物質 (水和剤)	200	3.6
"	100	14.7
"	50	30.6
SI-4228E 物質 (水和剤)	200	2.8
"	100	17.6
"	50	24.8
ロプラー	500	6.8

試験例 4

実施例2において製造した水和剤を種々の濃度になるように殺菌した溶状態のサブロー寒天培地に加えて均一分散したのち、シャーレーに分注し、放冷固化せしめた。

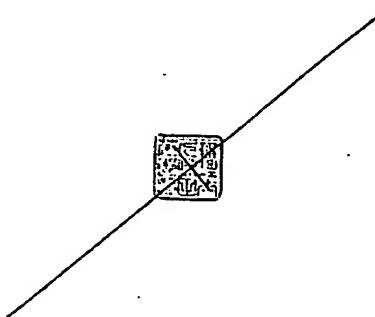
一方、予めSI-4228C物質、SI-4228D物質、SI-4228E物質のいずれも加えていないサブロー寒天培地に第5表に示す白黒菌を接種し、6日間培養した。この白黒菌の培養された寒天を円径5mmの殺菌したコルクポーラーで寒天ごと打ち抜き、上記の各濃度に調製したSI-4228CまたはDまたはE物質を含む寒天培地の中心に置き、SI-4228CまたはDまたはE物質の白黒菌に対する最小発育阻止濃度を調べた。結果を第5表に示した。



参考例

製造例1、2と同様の方法で得たSI-4228C、D、E物質各20mgを1mlのエタノールに溶解せしめた。

一方サリチルスルホニルヒドラジドをSI-4228C、D、E物質に対しそれぞれ1.5倍モルになるように加えて1時間攪拌し、その後24時間放置して生成したヒドラジンの結晶を集め、実施例2と同様の方法で水和剤を製造し、この薬剤を用いて試験例1と同様の方法でインゲン灰色カビ病に対する予防効果試験を行なつた。結果を第6表に示した。



第5表

供試菌	最小発育阻止濃度 (mcg/ml)		
	SI-4228C物質	SI-4228D物質	SI-4228E物質
トリコフィトン・インターディジタル (<i>Trichophyton interdigitale</i>)	50	100	100
IFO 5466株	1FO 5466株	1FO 5809株	1FO 5467株
トリコフィトン・ヤナセム アステロイデス (<i>Trichophyton kypseum asteroides</i>)	200	200	200
IFO 5809株	IFO 5466株	IFO 5467株	IFO 5467株
トリコフィトン・ルブルム (<i>Trichophyton rubrum</i>)	100	100	100

第6表

薬剤	濃度 (ppm)	罹病度
SI-4228C物質のヒドラジン	200	0
"	100	4.5
"	50	13.2
SI-4228D物質のヒドラジン	200	0
"	100	1.3
"	50	10.3
SI-4228E物質のヒドラジン	200	1.3
"	100	6.7
"	50	15.6
ポリオキシン	200	20.5
ロプラール	500	1.3

4. 図面の簡単な説明

第1図、第2図、第3図は、それぞれSI-4228C物質、SI-4228D物質、SI-4228E物質の赤外線吸収スペクトル(KBr法)である。第4図、第5図、第6図は、それぞれSI-4228C物質、SI-4228D物質、SI-4228E物質の紫外線吸収スペクトル(メタノール溶液中で測定)である。第7図、第8図、第9図はそれぞれSI-4228C物質、SI-4228D物質、

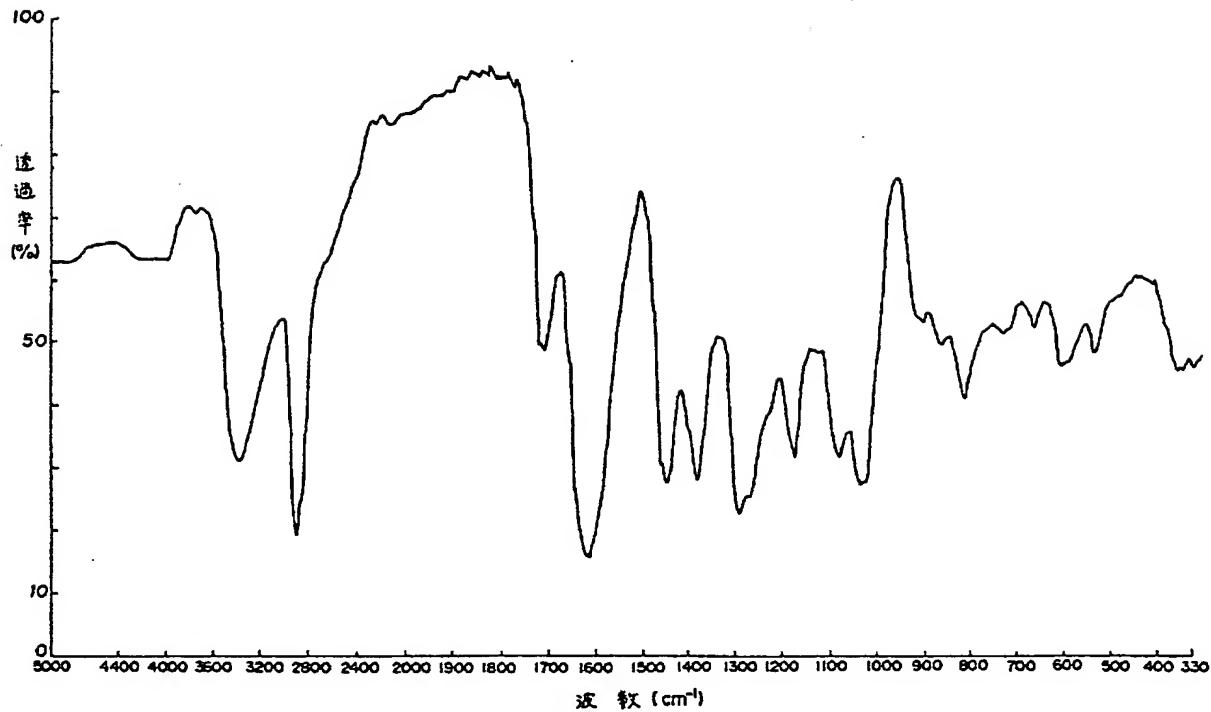
SI - 4228 E 物質の ^1H -NMR スペクトル（重クロロホルム溶液中、TMS を基準物質として測定）である。第 10 図、第 11 図、第 12 図はそれぞれ SI - 4228 C 物質、SI - 4228 D 物質、SI - 4228 E 物質の ^{13}C -NMR スペクトル（重クロロホルム溶液中、TMS を基準物質として測定）である。

特許出願人 出光興産株式会社

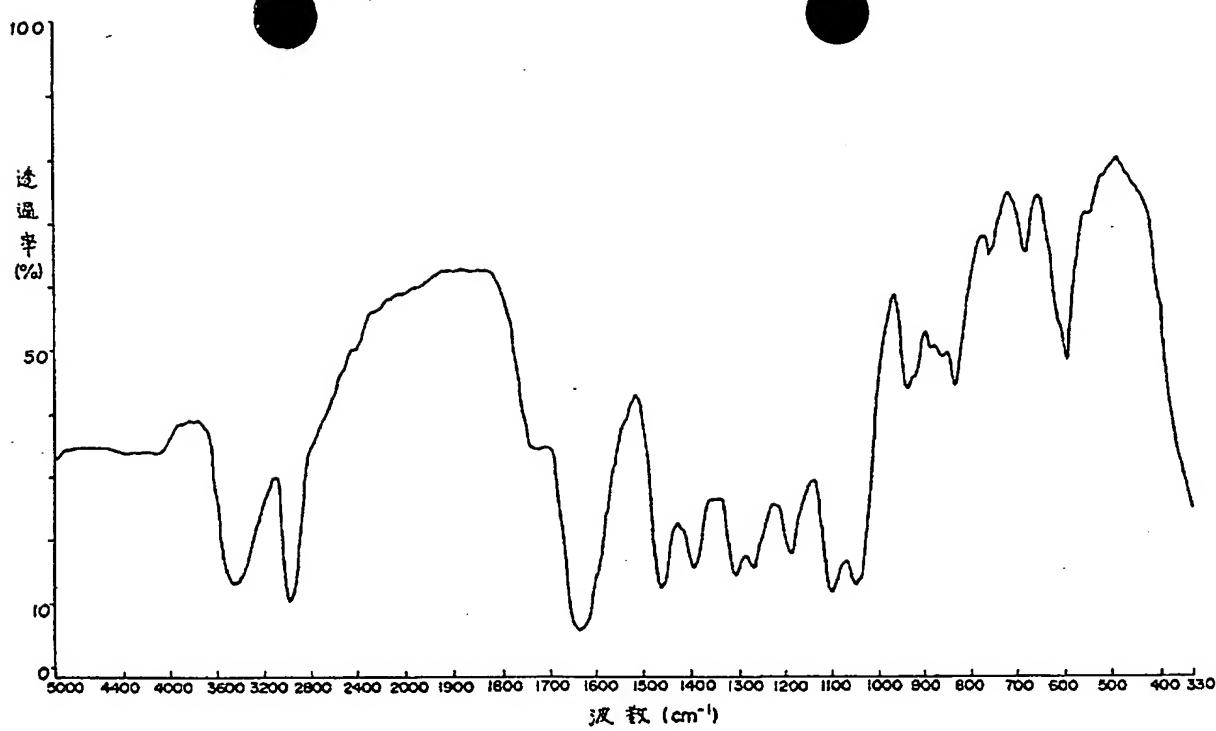
代理人 弁理士 久保田 藤郎



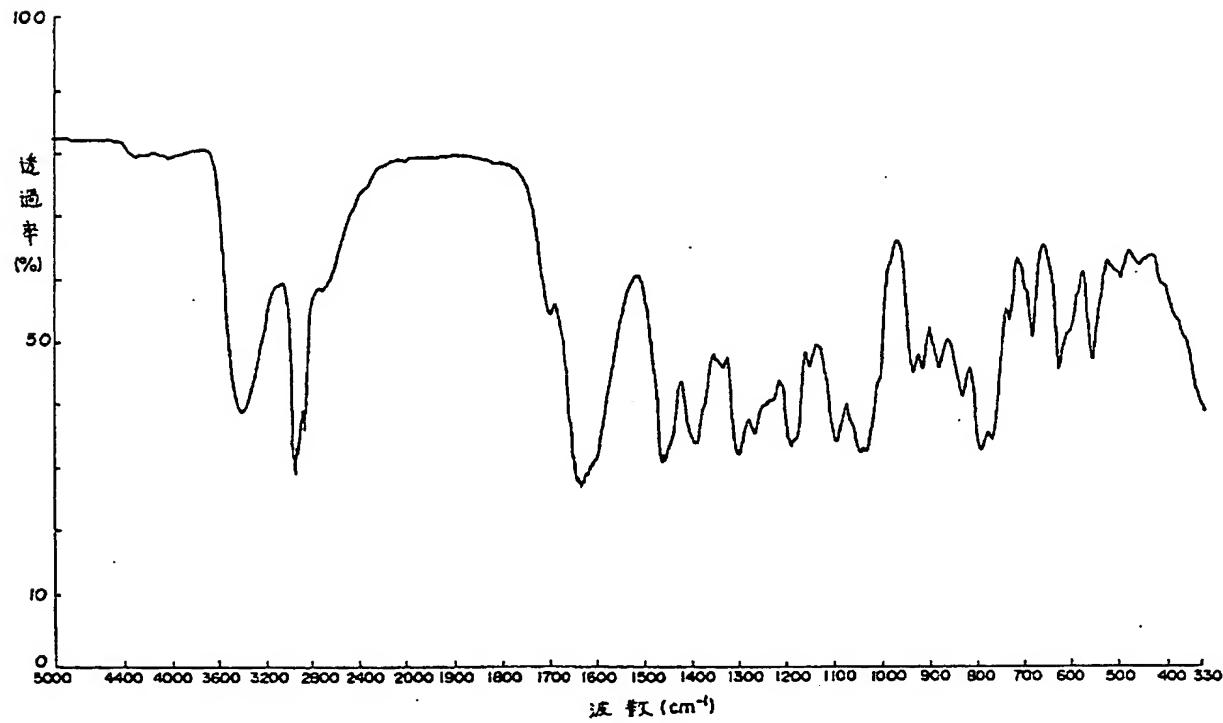
第 1 図



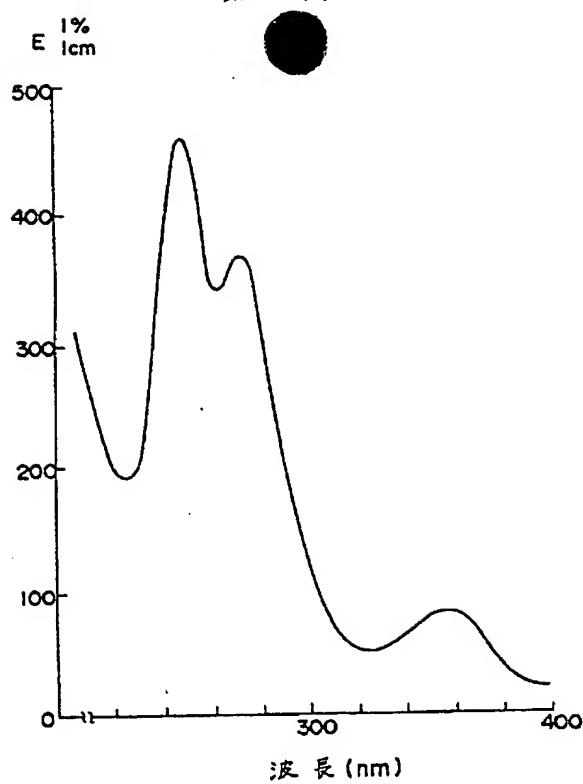
第2図



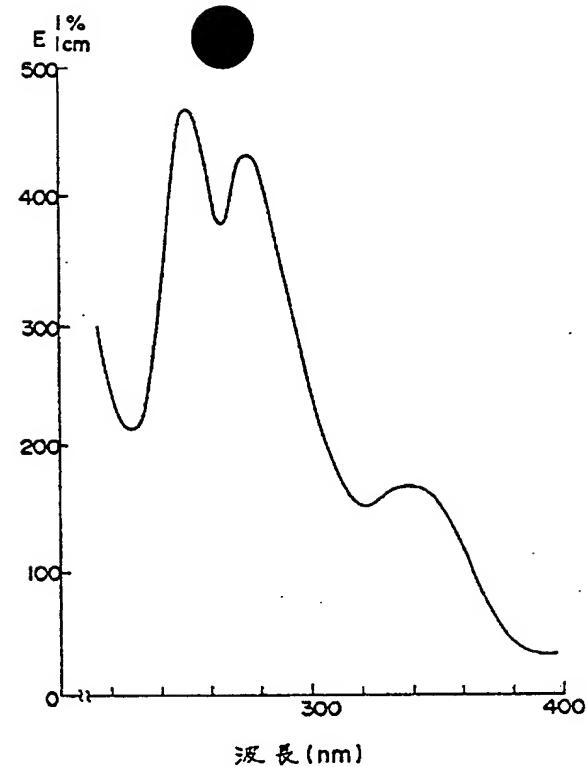
第3図



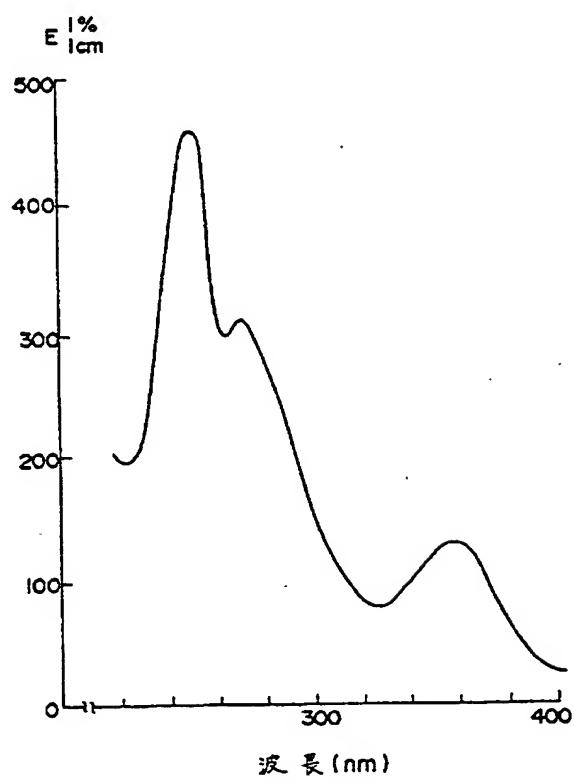
第4図



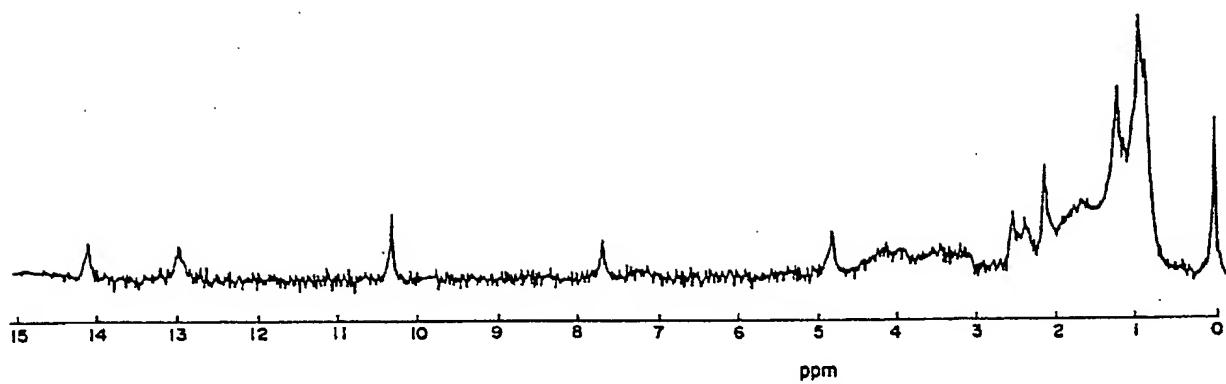
第5図



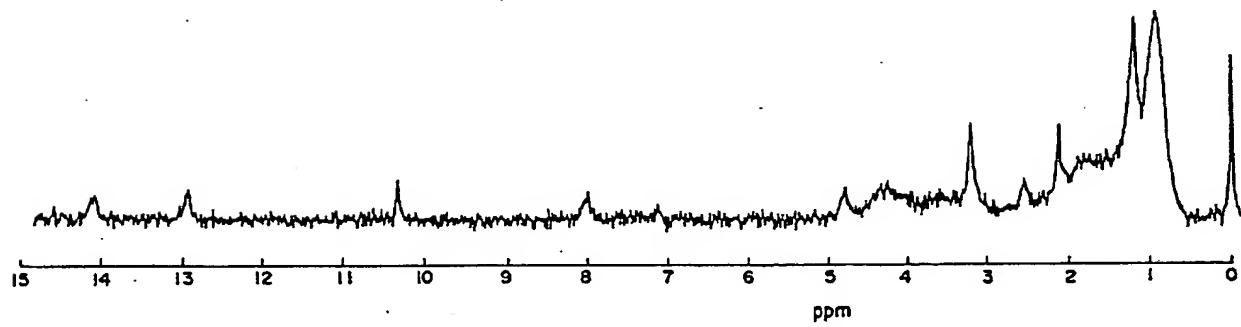
第6図



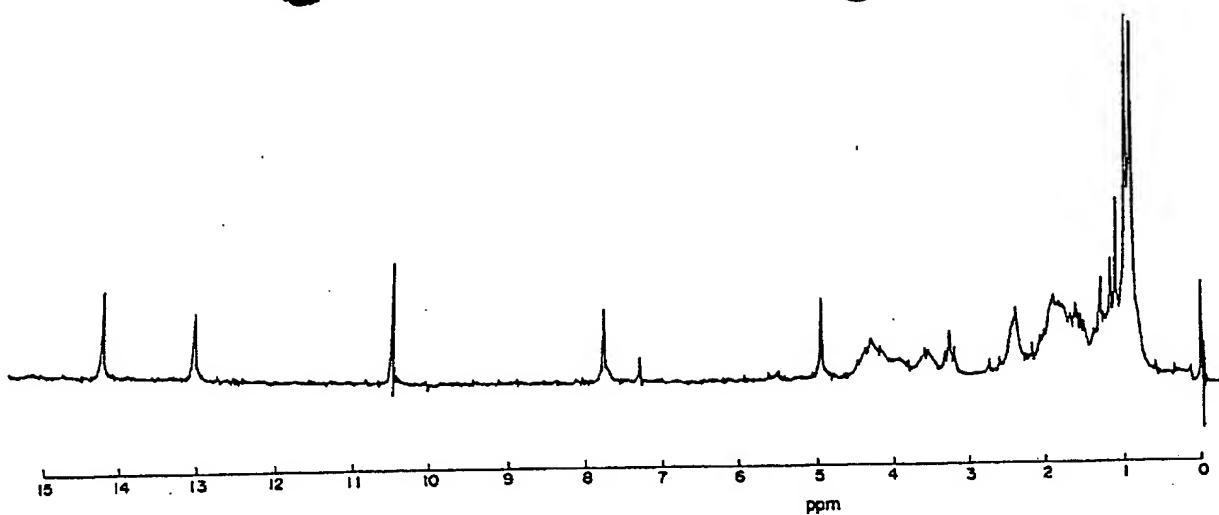
第7図



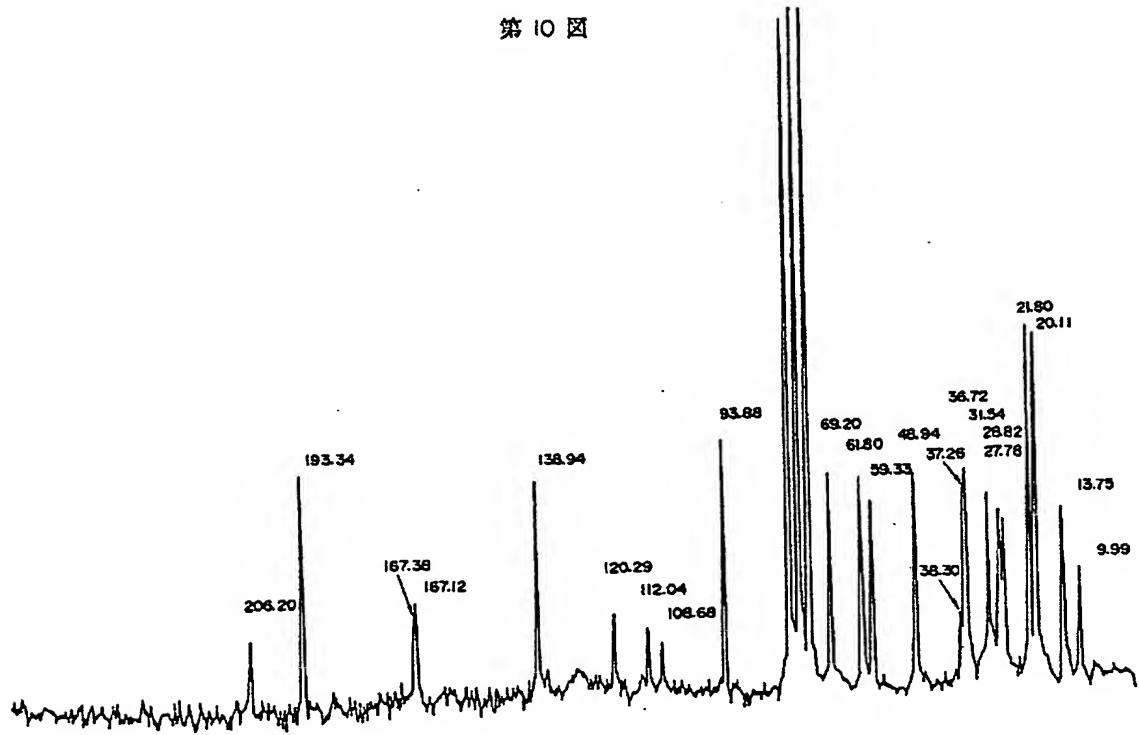
第8図



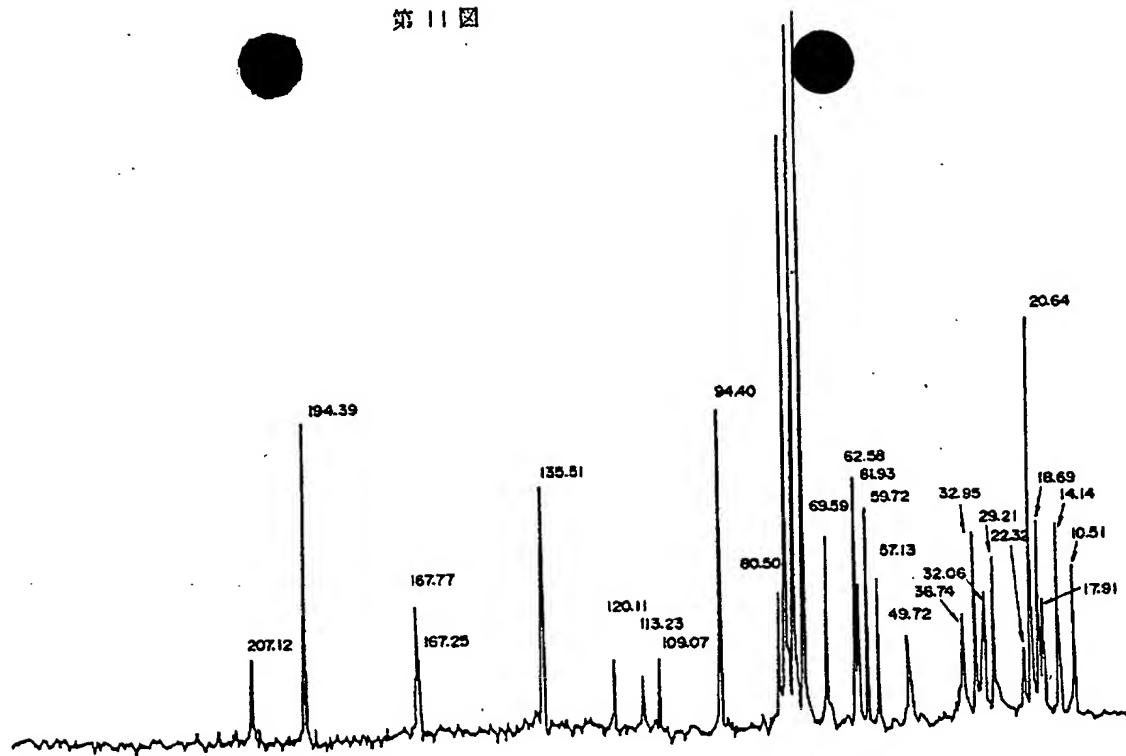
第9図



第10図



第 11 図



第 12 図

